염화메틸렌 시험법

1. 적용범위

본 시험법은 커피 원두 또는 분쇄된 커피 분말에 적용한다.

2. 분석원리

헤드스페이스(Headspace, HS)를 이용하여 커피 중의 염화메틸렌을 일정 온도에서 가열하고 평형상태에 있는 기체상(Gas Phase)의 일정량을 기체크로마토그래프(Gas Chromatograph, GC)로 분리하여 질량분석기(Mass Spectrometer, MS)로 검출하는 방법(HS/GC/MS)이다.

3. 장치

헤드스페이스/가스크로마토그래프/질량분석기(HS/GC/MS)

4. 시약 및 시액

시약 및 시액은 염화메틸렌 분석에 영향을 미치는 방해성분을 함유하지 않아야 한다.

1) 증류수 : 염화메틸렌을 함유하지 않은 헤드스페이스용 증류수를 사용한다.
   ※ 바탕시험에서 표준물질 및 내부표준물질의 피크 부근에 불순물 피크가 없는 것을 확인
2) 정량용 표준물질 : 염화메틸렌(sigma aldrich) 또는 이와 동등 이상의 것
3) 내부표준물질 : 클로로포름(sigma aldrich) 또는 이와 동등 이상의 것
4) 정량용 표준원액 : 염화메틸렌 표준물질을 메탄올에 녹여 1,000 μL/L(v/v)로 한 것
5) 내부표준원액 : 내부표준물질(클로로포름)을 메탄올에 녹여 1,000 μL/L(v/v)로 한 것
6) 내부표준용액 : 내부표준원액을 메탄올에 녹여 1.0 μL/L로 한 것
7) 검량선 작성용 혼합 표준용액 : 정량용 표준원액을 이용하여 정량한계 부분의 저농도의 것과 예상 검출농도보다 높은 고농도의 것을 적어도 하나 이상 포함 시켜 5단계 이상의 농도 범위(예시, 0.2, 0.5, 0.75, 1.0, 1.5, 2.0 μL/L)로 조제한 것 또는 이와 동등한 효과를 갖는 것. (단, 검량선 작성용 표준용액들로 작성된 검량선은 직선성을 유지하여야 하며, 각각의 검량선 작성용 표준용액에는 내부표준용액이 동일 농도(예시, 1.0 μL/L)로 함유되어야 한다.)

5. 시험용액의 조제

1) 시료 전처리

커피원두는 커피분쇄기를 이용하거나 막자사발로 잘게 분쇄하여 표준망체(1.18 mm)를 통과한 것을 사용한다.

2) 추출

균질화된 검체(분쇄된 커피 원두 또는 커피 분말) 0.5 g을 정밀히 달아 헤드스페이스 바이알(20 mL)에 넣고 내부표준용액(클로로포름) 50 μL와 증류수 5 mL를 첨가한 다음 신속하게 바이알 뚜껑을 닫아 시험용액으로 한다.

3) 시험조작

(1) 헤드스페이스의 반응 조건

헤드스페이스의 반응 조건은 <표 1> 과 같다

<표 1> 염화메틸렌 정량을 위한 헤드스페이스 실험조건

항 목	조 건
가열온도	85℃
가열시간	20 min
주입량	50 μL
주입부온도	200℃

(2) 기체크로마토그래프의 측정조건

가) 칼럼 : DB-624(30 m × 0.32 mm, 0.18 μm) 또는 이와 동등 이상의 것

나) 주입부 온도 : 200℃

다) 오븐온도 : 초기 온도 30℃에서 10분간 유지하고 20℃/분의 비율로 50℃까지 온도를 상승시킨다 (Post run: 200℃, 3분).

라) 운반기체 및 유량 : 헬륨, 1.5 mL/분

마) 주입 방법 : 분할(split) 주입(분할비, 10:1)

(3) 질량분석기의 측정조건

가) 튜닝 표준물질 : PFTBA(Perfluorotributylamine)

나) 이온화 방법 : EI(Electron Ionization) 모드(70 eV)

다) 분석 방법 : SIM(Selected Ion Monitoring) 모드

라) 정량 및 정성 이온 : <표 2> 참조

<표 2> 염화메틸렌 측정을 위한 정성 및 정량이온

대상성분	정량이온(M)	정성이온(M+2), fragment ion(F)	이온비	
			[M/(M+2)]	[M/F]
염화메틸렌	84(M)	86(M+2), 49(F)	1.52	STD 대비 이온비
클로로포름	83(M)	85(M+2), 47(F)		

(4) 검량선 작성

공시료에 검량선 작성용 혼합 표준용액을 농도별로 50 μL씩 첨가하여 "5. 시험용액의 조제방법"과 같은 방법으로 헤드스페이스/기체크로마토그래프/질량분석기에 주입하고 각 선택이온에 대한 크로마토그램을 작성하여 염화메틸렌 표준물질의 피크 면적과 이에 대응하는 내부표준물질(클로로포름)의 피크 면적을 구하여 검량선을 작성한다.

(5) 염화메틸렌 표준물질의 크로마토그램

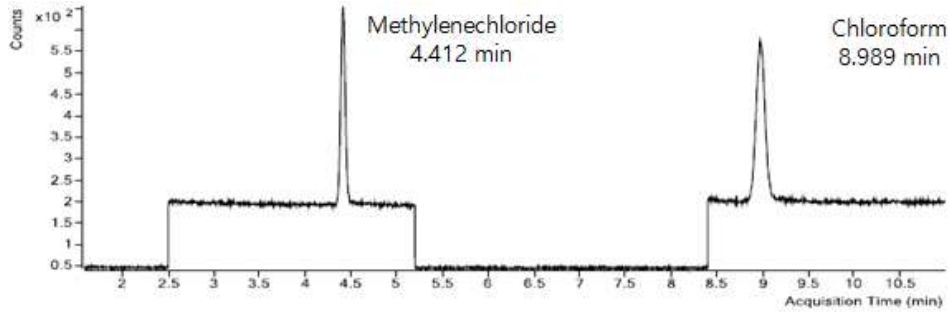


그림 1. 염화메틸렌 표준물질과 내부표준물질(클로로포름)의 크로마토그램

4) 정성시험

위의 조건에서 얻어진 시험용액의 크로마토그램상의 피크를 염화메틸렌 표준물질 및 내부표준물질의 피크 머무름 시간과 비교할 때 일치하여야 하며, 측정한 선택 이온 2개의 이온세기 비율(M/M+2 또는 M/F)은 <표 2>에 나타난 이온비에 대하여 ±10% 이내이어야 한다.

5) 정량시험

검량선 작성용 표준용액의 염화메틸렌 피크면적(As)과 내부표준물질 피크면적(Ais)에 대한 비[As/Ais]를 Y축으로 하고 염화메틸렌 표준물질의 양을 X축으로 하여 검량곡선을 작성하고, 시험용액에서 얻어진 염화메틸렌의 피크면적과 내부표준물질의 피크면적비[Asam/Asamis]를 Y축에 대입하여 염화메틸렌의 양으로 한다(정량한계 : 0.05 μL/kg).

$$MC(\mu L) = \frac{\frac{Asam}{Asamis} - b}{a}$$

a : 검량곡선의 기울기

b : 검량곡선의 절편 값

MC : 검량선에서 구한 염화메틸렌의 양(μL)

$$\text{시료 중 염화메틸렌 농도}(\mu L/kg) = \frac{MC}{\text{시료 채취량}(kg)}$$